



УКРАЇНА

(19) UA (11) 22489 (13) A

(51)6 A 01 G 7/00

ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті  
на підставі Постанови Верховної Ради України  
№ 3769 XII від 23 XII 1993 рПублікується  
в редакції заявника

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР, ЗОКРЕМА СОЇ, НА ХОЛОДОСТІЙКІСТЬ

1

(21) 95041935  
(22) 25.04.95  
(24) 03.03.98  
(46) 30.06.98, Бюл. № 3  
(47) 03.03.98  
(72) Мусіч Володимир Миколайович, Корнеллі Белла Михайлівна, Січкач Вячеслав Іванович  
(73) Селекційно-генетичний Інститут Української академії аграрних наук

2

(57) Спосіб оцінки селекційного матеріалу зернобобових культур, зокрема сої, на холодостійкість, при якому насіння пророщують, проростки піддають дії пониженої температури, який відрізняється тим, що оцінку проводять в корінцях трьохдобових проростків, після 24 – 72 годинної експозиції, холодостійкість визначають за активністю фермента ізоцитратдегідрогенази, значення якої прямо пропорційно ступеню холодостійкості.

Винахід відноситься до сільського господарства і зв'язаний з селекцією нових сортів сої.

Запропонований спосіб, в зв'язку з простотою, експресністю, продуктивністю та достовірністю, дозволить істотно підвищити результативність виведення нових сортів, які відповідають вимогам сучасного сільськогосподарського виробництва, за рахунок бракування небажаних генотипів на ранніх етапах селекційного процесу.

Відомий спосіб – аналог визначення стійкості рослин до низьких позитивних температур на ранніх етапах онтогенезу [Авт. св. СССР № 2823161/15], оснований на визначенні характеру впливу різкого зниження температури на ступінь диференціювання клітин кореня

За прототип взято метод, згідно з яким рослину квасолі вирощують при оптимальних режимах живлення і водопостачання на протязі 8 днів. Потім проростки охолоджують на протязі 2 – 7 днів при температурі 2–3,5°C у кліматичній камері, де підтримується 16-годинний фотоперіод при інтенсивності освітлення 5000 лк. Після цього визначають величину електропровідності водних екстрактів із висічок листя, яка прямо пропорційна стійкості рослин до холодостресу [Лоханов А.П. Возможности диагностирования устойчивости зернобобовых культур к низким положительным температурам по физиологическим показателям – "Физиология и биохимия культурных растений", 1975, т. 7, вып. 5, с. 517–521]

Нижче приводяться порівняльні характеристики заявляемого способу та прототипу:

(19) UA (11) 22489 (13) A

| Показники                    | Заявляємий спосіб                                   | Прототип           |
|------------------------------|---|--------------------|
| Умови пророщення             | У ростильнях, чашках Петрі на фільтрувальній бумазі | У ящиках з ґрунтом |
| Тривалість пророщування      | 3 діб   | 8 діб              |
| Тривалість холодового впливу | 2-3 доби  | 2-7 діб            |
| Необхідне обладнання         | Побутовий холодильник                               | Кліматична камера  |
| Необхідність освітлення      | Немає   | Є                  |
| Аналізуємий матеріал         | Корінці   | Висічки листя      |
| Дозвільна здатність          | 37-339 мкг ТТХ                                      | 38,1- 237 Ом       |

З представлених у таблиці відомостей видно, що заявляємий спосіб має значну експресію, тому що дозволяє одержати дані на 5-6 добу з початку його здійснення, тоді як по прототипу необхідно 10-15 діб.

Заявляємий спосіб є менш трудо- та енергозатратним, тому що виключає роботу з ґрунтом, використання спеціального обладнання типу кліматичної камери, а також необхідність освітлення проростків у період проведення експерименту. При цьому для аналізу використовуються не висічки листя, а корінці, які більш чутливі до холодового впливу.

Крім того, для прототипу характерна менша дозвільна здатність (від 38,1 до 237 Ом) у порівнянні із заявляємим способом (37-339 мкг ТТХ).

Суть винаходу

Задача, на вирішення якої направлений винахід.

Соя – термофільна культура, тому при наявності низьких позитивних температур різко знижує продуктивність. Підвищення урожайності і її стабільності в значній мірі визначається впровадженням у виробництво високохолодостійких сортів сої. Завданням винаходу є розробка способу оцінки холодостійкості рослин сої на ранніх етапах селекційного процесу.

Технічний результат, який можливо отримати при здійсненні винаходу, складається з підвищення експресності і точності визначення холодостійкості шляхом дії холодового стресу на проростки.

Суттєві ознаки винаходу: отримання проростків шляхом пророщування насіння, використання показника активності фермента Ізоцитрат дегідрогенази в корінцях за критерій стійкості, виявлення генетично детермінованих відмінностей форм сої за активністю ферментів окислювально-відновлювального циклу, оцінка холодостійкості

сортів сої на самих ранніх стадіях розвитку рослин (3-4 доби).

Суттєві характерні ознаки винаходу.

Об'єктом оцінки на холодостійкість є трьохдобові корінці сої, короткочасність дії низькою позитивною температурою 1-5°C (24-72 години), визначення Ізоцитрат-дегідрогенази безпосередньо в коренях, пряма залежність активності ферменту та холодостійкості.

Причинно-наслідковий зв'язок між купністю суттєвих ознак винаходу та досягнутим технічним результатом: дія холодом при заявлених умовах різко підвищує активність ключового ферменту циклу Кребса (дихального циклу) – Ізоцитратдегідрогенази, а результаті чого достовірні результати можна отримати вже через три доби; визначення ІДГ в корінцях дозволяє підвищити точність поділу на групи стійкості в зв'язку з тим, що їх дихальна система більш чутлива до дії низької температури, чим надземна частина. Економічність способу пов'язана з експресністю та відсутністю необхідності тривалого використання холодильного обладнання.

Відомості, що підтверджують можливість здійснення винаходу.

Пропонований спосіб оцінки холодостійкості сортів сої базується на виявленні генетично детермінованих відмінностей за активністю ферментів окислювально-відновлювального циклу.

Раніше проведеними дослідженнями було показано, що сорти пшениці за активністю ферментних систем, які приймають участь в диханні проростків, після загартування їх до низьких температур суттєво відрізняються один від іншого в залежності від їх морозостійкості. Після проведених досліджень по визначенню активності дегідрогенази в сортів сої різної холодостійкості були виявлені відмінності, аналогічні пшениці, що послужило основою для

розробки способу оцінки до даного несприятливого фактору. Визначення активності ферментів дегідрогеназ відбувається за їх реакцією 2,3,5-трифенілтетразолійхлоридом (ТТХ), в якій водень, забраний дегідрогеназою від субстрату в безкисневому середовищі, передається ТТХ, що призводить до його відновлення і утворення формазану, який має червоний колір.

Після попередніх досліджень дегідрогеназної активності сої були проведені експерименти з технологічної підготовки рослин, що забезпечує генетично детерміновану реакцію сортів на дію близькопольової позитивної температури.

Приклад здійснення способу.

Насіння сортів сої з відомою холодостійкістю пророщували при температурі 20–22°C три доби. Потім проростки піддавали дії пониженої температури 1–5°C на протязі 24–72 годин. В цей період, в динаміці, через кожні 24 години визначали в коренях активність Ізоцитратдегідрогенази.

Дані показані в табл. 1.

З представлених даних (табл. 1) видно, що до охолодження проростків достовірні відмінності між групами сортів різної стійкості не проявляються. Після охолодження на протязі 24 та 48 годин спостерігається чітка пряма залежність між стійкістю сортів до холодного стресу та активністю ІДГ в корінцях: чим вищий показник активності – тим більш стійкий сорт. При цьому відмінності в показниках активності ІДГ між крайніми групами в середньому склали близько двох раз. Після охолодження

проростків на протязі 72 годин – близько 6 раз.

В зв'язку з цим необхідно піддавати проростки холодному стресу оптимально – три доби, що забезпечує значне збільшення його конкурентної здатності.

Після попередніх досліджень дегідрогеназної активності сої були проведені розробки технологічної підготовки рослин для методичної оцінки їх на холодостійкість за дегідрогеназною активністю.

П р и к л а д. Оцінку холодостійкості селекційного матеріалу провели на дев'ятих сортах сої:

Кріпиш  
Южанка  
Ходсон

Холодостійкі

Юг-40  
Альтаір  
Юг-30

Середньохолодостійкі

Аркадія  
одеська  
Чарівниця  
степа  
Білгородська 48

Нехолодостійкі

Насіння цих сортів пророщували за методикою, після відростання корінців до 2–3 см, зразки розміщували в термостатичні умови з температурою 2°C, через 72 години визначали активність Ізоцитратдегідрогенази.

Дані табл. 2 вказують на пряму залежність активності ферменту ІДГ від холодостійкості вивчених сортів сої.

Т а б л и ц я 1

Вплив тривалості охолодження на активність ІДГ в різних за холодостійкістю групах сортів сої

| Холодостійкість | Відновлений ТТХ, мкг* |                                     |       |         |
|-----------------|-----------------------|-------------------------------------|-------|---------|
|                 | До охолодження        | Після охолодження на протязі, годин |       |         |
|                 |                       | 24                                  | 48    | 72      |
| Висока          | 20–29                 | 22–31                               | 53–61 | 198–339 |
| Середня         | 25–28                 | 23–30                               | 48–51 | 104–117 |
| Низька          | 18–26                 | 20–29                               | 31–33 | 37–53   |

\* – розмах коливань в межах групи.

Т а б л и ц я 2

Характеристика холодостійкості за активністю Ізоцитратдегідрогенази

| №<br>пп | Сорт            | Відновлений ТТХ, мкг | Холодостійкий         |
|---------|-----------------|----------------------|-----------------------|
| 1       | Ходсон          | 320                  | Холодостійкий         |
| 2       | Кріпиш          | 300                  | "                     |
| 3       | Южанка          | 260                  | "                     |
| 4       | Юг-30           | 175                  | Середньохолодостійкий |
| 5       | Юг-40           | 175                  | "                     |
| 6       | Альтаір         | 170                  | "                     |
| 7       | Чарівниця степу | 92                   | Нехолодостійкий       |
| 8       | Білгородська 48 | 98                   | "                     |
| 9       | Аркадія одеська | 71                   | "                     |

Упорядник

Техред М.Келемеш

Коректор Н.Король

Замовлення 4490

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101